

文章编号: 0254- 5357(2003)04- 0258- 05

多巴胺在聚 3,4- 吡啶二羧酸修饰电极上的电化学反应及其测定

袁倬斌, 吕元琦, 邬春华

(中国科技大学研究生院应化所, 北京 100039)

摘要: 制备了聚 3,4- 吡啶二羧酸修饰电极, 研究了多巴胺在修饰电极上的电化学反应。结果表明聚 3,4- 吡啶二羧酸聚合物膜对多巴胺的氧化具有明显的催化作用, 并且可以消除抗坏血酸对多巴胺测定中的干扰。多巴胺的浓度在 $2.0 \times 10^{-6} \sim 4.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 内与其氧化电流呈线性关系, 相对标准偏差为 3.2% ($n = 10$), 检出限为 $8.0 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ 。将该修饰电极用于分析模拟样品和注射液样品中的多巴胺, 分析结果表明, 该修饰电极有望用于实际样品分析。

关键词: 玻碳电极; 多巴胺; 3,4- 吡啶二羧酸

中图分类号: O646.54

文献标识码: A

多巴胺(DA)是哺乳动物中枢神经系统中一种非常重要的神经递质,体内多巴胺浓度异常会引起帕金森、精神分裂症等疾病。准确测定多巴胺具有重要的生物和医学意义。常用的 DA 检测方法有光度法^[1]、色谱法^[2]等。电化学分析方法由于其价格低廉、便于操作等特点也广受关注。但是,电化学测定多巴胺时遇到最重要的困难是来自抗坏血酸(AA)的干扰,抗坏血酸和多巴胺的氧化电位几乎完全重叠,而其浓度却较多巴胺高 2~3 个数量级^[3]。电分析化学家提出了很多方法,例如电化学预处理电极^[4,5]、自组装膜修饰电极^[6~8]、聚合物膜修饰电极^[9~13]、过氧化的聚合物膜修饰电极^[3]、双层膜修饰电极^[14]等方法来解决这一问题。其中,聚合物薄膜修饰电极由于可提供三维空间场、具有较多的活性部位、制备简单、稳定性和重现性好的特点,在 DA 测定中的应用最为广泛。本文利用恒电位法制备了聚 3,4- 吡啶二羧酸修饰电极,研究了 DA 在修饰电极上的电化学反应,结果表明,该修饰电极对 DA 在玻碳电极上的电化学反应具有明显的催化作用且可以消除 DA 测定中 AA

的干扰。该修饰电极被用于测定模拟样品中的 DA,分析结果与加入值一致;分析注射液样品亦得到与标示值基本一致的结果。表明该修饰电极有望用于实际样品分析。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

盐酸多巴胺(瑞士 Fluka 公司),3,4- 吡啶二羧酸(The British Drug House Ltd),抗坏血酸(北京化工厂),盐酸多巴胺注射液(购自北京中西医结合医院), $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 配成 pH 7.0 的 0.1 mol/L 磷酸盐(PBS)缓冲溶液,所用试剂均为分析纯或优级纯,实验用水为二次石英蒸馏水。

CHI 660A 电化学工作站(美国 CHI 公司),LK98B II 微机电化学分析系统(天津兰立科,中国科学院研究生院应化所,本实验中主要用于溶出伏安测定),三电极系统:工作电极为玻碳电极($d = 3 \text{ mm}$),参比电极为饱和甘汞电极,对电极为铂片电极。

收稿日期: 2002-12-22; 修订日期: 2003-04-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20175025; 29875027; 20235010)

作者简介: 袁倬斌(1938-),男,四川省蒲江县人,教授,博士生导师,从事现代分析化学技术及应用、电分析化学、HPCE 及 SPM 等在细胞分析和环境分析中的应用研究。

1.2 修饰电极的制备

将玻碳电极在金相砂纸(1 200[#])上打磨,然后在麂皮套上用 CeO₂ 悬糊抛光至镜面,依次用 8 mol/L HNO₃、丙酮和二次石英蒸馏水清洗(15 min/次)。电化学聚合采用三电极系统,在 0.005 mol/L 3,4-吡啶二羧酸和 0.1 mol/L KNO₃ 的溶液中通高纯氮气 20 min 除氧,并保持溶液上方为氮气气氛,在 1.8 V 下恒电位聚合 20 min,取出洗净、晾干,即制得修饰电极。测定前在 pH 7.0 的 PBS 缓冲溶液中,于 -0.4~0.6 V 电位内循环扫描 10 次来活化修饰电极。

1.3 实验方法

以 pH 7.0 的 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液为底液,加入一定量的 DA 储备液,静置 30 s,在 -0.4 V 下富集 30 s,然后以 0.1 V/s 的扫描速率正向扫描至 0.6 V,记录溶出伏安图。每次扫描结束,将三电极置于空白底液中循环扫描至无峰,以保持修饰电极的重现性和稳定性。

2 结果和讨论

2.1 电化学聚合条件

电化学聚合可采用恒电位法和循环伏安法进行,循环伏安法需要较长时间,本实验中采用恒电位法。当电位小于 1.4 V 时聚合反应很难发生,1.4~1.8 V 时聚合速度逐渐增加,超过 1.8 V 时

聚合速度大大加快,但得到的膜粗糙,并且在电极表面分布不均匀。本文选择 1.8 V 聚合电位。

聚合物膜修饰电极的催化能力与活性基的多少有关,与被测物穿过薄膜与活性中心接触的能力有关。本实验中聚合物膜必须具有适当的厚度才能对 DA 具有良好的催化作用同时消除 AA 的干扰。研究了 pH、聚合物单体浓度、聚合时间和支持电解质的影响。pH 2.0~6.0 内聚合反应都能发生,在该 pH 范围内变化时对 DA 响应信号影响不大,实验中选择 pH 5.0。实验结果表明,单体为 0.005 mol/L,支持电解质为 0.1 mol/L KNO₃ 时 DA 的响应最好。

2.2 多巴胺在修饰电极上的电化学行为

图 1 为 2.0×10^{-5} mol/L DA 在裸电极(1)和修饰电极(2)上的循环伏安曲线,DA 在修饰电极上氧化峰(a)电位较裸电极上负移 0.140 V,峰电流亦大大增加,说明聚 3,4-吡啶二羧酸薄膜对 DA 的电化学氧化具有明显的催化作用。同时,还出现了两个还原峰(b 和 c),a、b 一对氧化还原峰的可逆性也变好。原因可能是在 pH 7.0 的磷酸盐缓冲溶液中,DA 以阳离子形式存在,聚合物薄膜内羧基吸引 DA 阳离子,同时羧基和 DA 还可以形成氢键来增强电荷转移和 DA 的渗透,从而使 DA 的灵敏度提高。

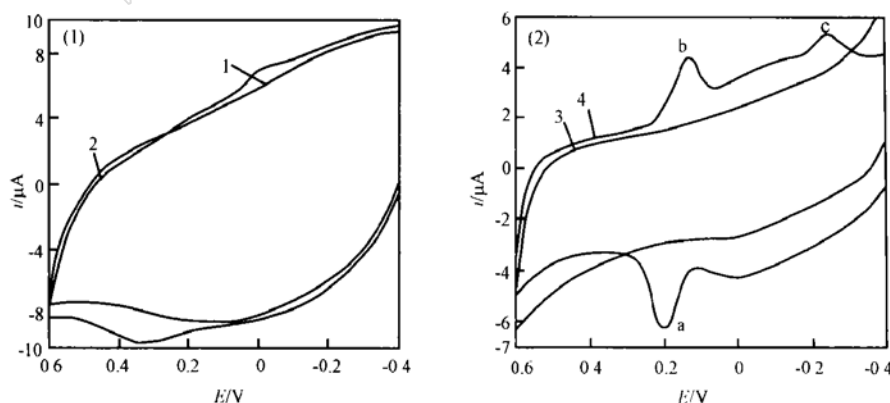


图 1 DA 在裸电极和修饰电极上的循环伏安图

Fig. 1 Cyclic voltammograms of DA at bare (1) and poly(cinchomeric acid) film CME (2)

1, 3—0.1 mol/L PBS of pH 7.0; 2, 4— 2.0×10^{-5} mol/L DA in 0.1 mol/L PBS of pH 7.0, scan rate: 100 mV/s.

2.3 扫速的影响

对扫速和氧化电流的关系进行了研究,实验观察到随扫速增加氧化还原电位差增大,表明 DA 电

化学氧化还原反应具有一定的不可逆性。氧化电流($i_{pa}/\mu A$)和扫速[$v/(mV \cdot s^{-1})$]、扫速的平方根[$v^{1/2}/(mV \cdot s^{-1})^{1/2}$]的回归方程以及相关系数(r)

分别为 $i_{pa} = -86.2968 + 8.4318v$, $i_{pa} = -0.1738 + 0.4391v^{1/2}$ 和 $r = 0.9947$, $r = 0.9899$, 说明 DA 在修饰电极上具有一定的吸附性。

2.4 溶液 pH 的影响

在 pH 2.0~9.0 内研究了 pH 对 DA 氧化电流的影响,随着 pH 的增加,DA 的氧化电位从 +0.6 V 负移到 0.17 V;氧化电流逐渐增加,当 pH 超过 7.0 之后,氧化电流趋于稳定。pH 超过 8.0 之后,氧化电流又开始下降。这是由于在不同的 pH 下,电极表面含氧基团与多巴胺不同静电作用的结果。本文中选取 pH 7.0 作为测定 DA 的 pH 值。

2.5 线性范围和检出限

本文利用线性扫描溶出伏安法进行定量。结果表明 DA 的浓度(c)在 $2.0 \times 10^{-6} \sim 4.0 \times 10^{-5}$ mol/L 内与氧化电流($i_{pa}/\mu A$)呈线性关系,线性回归方程和相关系数分别为: $i_{pa} = 2.0305c + 1.4085$, $r = 0.9993$, 连续 10 次测定 4.0×10^{-6} mol/L DA 的精度(RSD)为 3.2%,利用三倍噪声法求得检出限为 8.0×10^{-8} mol/L。

2.6 电极稳定性

将修饰电极在 pH 7.0 的 0.1 mol/L PBS 中连续循环扫描 200 次,峰形基本不变。将电极在室温下保存一个月后,对 DA 的响应电流下降 20%,表明该修饰电极具有良好的稳定性。

2.7 干扰研究

AA 与 DA 共存于哺乳动物中神经系统的细胞外液体中,其浓度比 DA 高很多,可以与 DA 在几乎相同的电位下氧化,造成它们伏安曲线的重叠。研究了 AA 对 DA 测定的干扰情况(图 2 是 pH 7.0 的 0.1 mol/L PBS 和 pH 7.0 的 0.1 mol/L PBS + 0.002 mol/L AA 的循环伏安图比较),可以看出,0.002 mol/L AA 在修饰电极上无明显响应,对 DA 的测定不构成干扰。为进一步验证 AA 在修饰电极上对 DA 测定不构成干扰,在 LK98B II 微机电化学分析系统上分别扫描了 2×10^{-5} mol/L DA 和 2×10^{-5} mol/L DA + 0.002 mol/L AA 的线性溶出伏安图,如图 3 所示,它们的差别在误差允许的范围内。聚合物薄膜能够消除 AA 对 DA 测定的干扰的原因可能是 AA 在 pH 7.0 的缓冲溶液中以阴离子状态存在,受到聚合物薄膜内活性基团 COO^- 的静电排斥很难进入薄膜内,从而消除了其对 DA 测定的干扰。

在以上选定的条件下,150 倍的 NaCl、KCl、

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 和 15 倍的葡萄糖、山梨酸、DL-苹果酸、酒石酸和柠檬酸也不构成干扰。

2.8 样品分析

利用以上建立的方法,对模拟样品(基体为 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液, $c_{AA}:c_{DA} = 200$) 进行了分析,结果如表 1 所示,检测结果与加入值一致。同时,将一支盐酸多巴胺注射液转移至 50 mL 棕色容量瓶中定容,取一定量于 10 mL 容量瓶中,用 pH 7.0 的 PBS 稀释至刻度,按实验方法进行测定,分析结果如表 2 所示,基本令人满意。说明该方法有望用于实际样品分析。

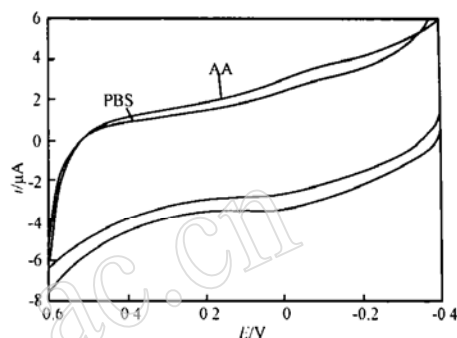


图 2 AA 和 PBS 在修饰电极上的循环伏安图
Fig. 2 Cyclic voltammogram of AA and PBS at poly(cinchomeric acid) film CME
AA—0.002 mol/L AA in 0.1 mol/L PBS of pH 7.0;
PBS—0.1 mol/L PBS of pH 7.0; scan rate: 100 mV/s.

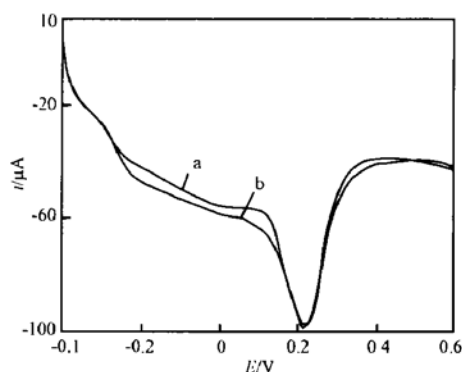


图 3 DA 和 DA+AA 的线性溶出伏安图

Fig. 3 Linear stripping voltammograms recorded in DA and DA+AA
a— 2×10^{-5} mol/L DA in 0.1 mol/L PBS of pH 7.0;
b—a+ 0.002 mol/L AA; scan rate: 100 mV/s.

3 结语

聚 3,4-吡啶二羧酸聚合物薄膜能够降低 DA 在玻碳电极上的过电位,对 DA 的电化学行为具有良好的催化作用。同时,在 pH 7.0 条件下由于静

电排斥作用可以消除AA对DA测定的干扰。通过分析模拟样品和注射液样品,说明该方法有望用于实际样品分析。

表1 模拟样品中DA的测定结果

Table 1 Determination results of DA in simulated samples

样品 sample	$c(\text{DA})/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$				RSD/ %	回收率 recovery (%)
	加入值 added	测得值 found		平均值 average		
1	4.5	4.2 4.6	4.7 4.8	4.1 4.5	7.0	100.0
2	3.0	2.7 3.1	3.1 2.8	2.9	6.1	96.7
3	6.0	6.2 6.1	5.6 6.2	6.0	4.1	100.0

表2 注射液样品中DA的测定结果

Table 2 Determination results of DA in injection samples

样品 sample	$c(\text{DA})/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$				RSD/ %	回收率 recovery (%)
	标示值 mark	测得值 found		平均值 average		
1	10.0	9.8 9.7	9.6 10.1	10.2 9.9	2.6	99.0
2	10.0	9.8 9.6	9.7 10.0	10.1 9.8	2.1	98.0
3	10.0	9.9 10.4	10.1 10.0	9.7 10.0	2.6	100.0

4 参考文献

- [1] 龙云,李东辉,冯建章,等.利用荷移反应分光光度法测定针剂中的多巴胺[J].分析化学.1997,25(8):916—918.
- [2] 朱爱芝,刘军,傅承光.高效液相色谱法测定痕量左旋多巴、甲基多巴和去甲肾上腺素[J].分析测试学报.1997,16(6):47—49.
- [3] Zheng L, Wu S, Lin X, et al. Selective Determination of Dopamine in the Presense of Ascorbic Acid at an Over-oxidized Poly (N-acetylaniline) Electrode [J]. *Analyst*. 2001, 126: 736—738.
- [4] Gondon F, Buda M, Cespuglio R, et al. Voltammetry in the Striatum of Chronic Freely Moving Rats: Detection of Catechols and Ascorbic Acid [J]. *Brain Res*. 1981, 223: 69—80.
- [5] Gondon F, Buda M, Desimoni G, et al. Catecholamine Metabolism in the Rat Locus Coeruleus as Studied by in Vivo Differential Pulse Voltammetry II. Pharmacological and Behavioral Study [J]. *Brain Res*. 1983, 273: 207—216.
- [6] 何品刚,于雁灵,方禹之.硫辛酸修饰碳纤维电极在抗坏血酸共存下选择性测定神经递质多巴胺[J].分析化学.1996,24:407—410.
- [7] Zhang L, Sun Y, Lin X. Separation of Anodic Peaks of Ascorbic Acid and Dopamine at an α -alanine Covalently Modified Glassy Carbon Electrode [J]. *Analyst*. 2001, 126: 1760—1763.
- [8] Zhang H M, Li N Q, Zhu W. Electrocatalytic Response of Dopamine at a DL-homocysteine Self-assembled Gold Electrode [J]. *Microchem J*. 2000, 64: 277—282.
- [9] 何星存,李平,莫金垣.用修饰电极导数伏安法同时测定多巴胺和肾上腺素[J].分析测试学报.2000,19:19—21.
- [10] 孙元喜,冶宝献,周性尧.聚中性红膜修饰电极上神经递质的电化学行为及应用[J].分析化学.1998,26:506—510.
- [11] Zhao H, Zhang Y, Yuan Z. Study on the Electrochemical Behavior of Dopamine with Poly (sulfosalicylic acid) Modified Glassy Carbon Electrode [J]. *Anal Chim Acta*. 2001, 441: 117—122.
- [12] Zhao H, Zhang Y, Yuan Z. Electrochemical Determination of Dopamine Using a Poly (2-picolinic acid) Modified Glassy Carbon Electrode [J]. *Analyst*. 2001, 126: 358—360.
- [13] 孙登明,顾海鹰,俞爱民,等.聚碱性品红修饰电极的制备及应用[J].高等学校化学学报.1997,18:376—380.
- [14] 汪振辉,郑建波,李工安,等.多巴胺在聚茶碱/Nafion双电层修饰玻碳电极上的电化学行为[J].分析化学.2000,28(5):568—572.

The Electrochemical Behavior of Dopamine on Poly (cinchomeric acid) Modified Glassy Carbon Electrode and Its Detection

YUAN Zhuo-bin, LU Yuan-qi, WU Chun-hua
(Institute of Applied Chemistry, The Graduate School of University
of Science and Technology of China, Beijing 100039, China)

Abstract: Poly(cinchomeric acid) modified glassy carbon electrode was fabricated through electro-polymerization. The electrochemical behavior of dopamine (DA) on the modified electrode was investigated. Results showed that the polymer exert an apparent catalytic effect on oxidation of DA. The oxidation current of DA is in linear relationship with its concentration in a range of $2.0 \times 10^{-6} \sim 4.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$. The detection limit and detection precision for DA are $8.0 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ and 3.2% RSD ($n = 10$) respectively. The modified electrode was applied to the synthesized sample and injection sample analysis. The results are in good agreement with the standard values, which suggests it is hopeful for this modified electrode to be used in real sample analysis.

Key words: glassy carbon electrode; dopamine; cinchomeric acid